

Aus dem Pharmakologischen Institut
der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Hydrophobe und ionogene Bindung von Phenothiazinderivaten an Rinderserumalbumin

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Jürgen Christian Staab
aus Budenheim

Mainz 1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Fachbereichsdekan: Herr Professor Dr. P. Klein

Referent: Herr Professor Dr. Dr. J.
Krieglstein

Korreferent: Herr Professor Dr. H. Scholz

Tag der mündlichen Prüfung: 18. 12. 74



I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	VI
 A EINFÜHRUNG	
a) Bindung von Pharmaka an Serumalbumin	1
b) Ursachen der Proteinbindung von niedermolekularen Stoffen	1
c) Frage nach der Art des Phenothiazin- Albumin-Komplexes	2
 B <u>Versuchsstoffe und Methodik</u>	3
I <u>Versuchsstoffe</u>	3
 II <u>Methodik</u>	3
1) Bestimmung der Eiweißbindung	3
a) Das Prinzip der Sephadexgel- filtration	3
b) Durchführung der Versuche	4
2) Das Verteilungsverhalten der Phenothiazinderivate	6
a) Hydrophobe Wechselwirkungen	6
b) Die Untersuchung des hydrophoben Charakters der Substanzen	7

3) Statistik	8
a) Zweifache Varianzanalyse	8
b) Tukey-Test	9
C <u>Ergebnisse</u>	10
I <u>Charakterisierung der Eiweißbindung</u>	10
1) Die Parameter der Eiweißbindung und ihre Bestimmung	10
a) Die Parameter der Eiweißbindung	10
b) Das Scatchard-Diagramm	10
c) Die Darstellung der Eiweiß- bindungsversuche nach Scholtan	11
2) Die Eiweißbindung der untersuchten Phenothiazinderivate	12
II <u>Der hydrophobe Charakter der Substanzen und die Substituentenkonstante $\overline{\pi}$</u>	16
1) Der hydrophobe Charakter	16
a) Die Dissoziation der Phenothia- zinderivate	16
b) Die Hydrophobie der untersuchten Substanzen	16
2) Die Substituentenkonstante $\overline{\pi}$	17
a) Korrelation zwischen Hydrophobie und Eiweißbindung	17

	b) Graphische Darstellung der Verknüpfung von Serumalbumin- bindung und Verteilungsverhalten	19
III	<u>Statistik</u>	21
D	<u>Diskussion</u>	23
I	<u>Hinweise aus der Literatur über die Art der Proteinbindung</u>	23
1)	Unterschiedliche Kräfte als Ursache für die Proteinbindung von Pharmaka	23
2)	Hydrophobe Wechselwirkungen bei der Bindung von Phenothiazinderi- vaten an Rinderserumalbumin	23
II	<u>Abhängigkeit der Eiweißbindung der Phenothiazinderivate von der Struktur der Seitenkette</u>	25
1)	Das Verhalten von Promazin als Bezugsgröße	25
2)	Proteinbindung aliphatischer Ketten	25
	a) Literaturhinweise	25
	b) Eiweißbindung von Promethazin und Trimeprazin	26

3) Stereometrie von Phenothiazinderivaten	27
a) Untersuchungen mit Hilfe von Elektronen-Spin-Resonanz-Spektroskopie	27
b) Stereometrie bei Promethazin und Trimeprazin	27
c) Bindung der aliphatischen Seitenkette an Protein	28
4) Desmethylpromazin, Desmethylchlorpromazin und Perazin	28
5) Effekte der Seitenkette bei der Verdrängung von Phenothiazinderivaten aus der Bindung an Albumin	30
6) Ein Modell der Eiweißbindung von Phenothiazinderivaten	31
<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	50
Literatur	52
Lebenslauf	

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Seite

- Abb. 1: Auftrennung einer Promethazin-
Rinderserumalbuminlösung durch
Gelfiltration auf einer 20 X 1,2 cm
Säule aus Sephadex G-50 fine bei
22° C 5
- Abb. 2: Proteinbindung der Phenothiazinderivate bei verschiedenen Arzneimittelkonzentrationen in 1 %iger Rinder-
serumalbuminlösung (pH 7,4, 22° C) 13
- Abb. 3: Scatcharddarstellung der Serumalbuminbindung von Phenothiazinderivaten 14
- Abb. 4: Darstellung des Bindungsvermögens einer
1 %igen Rinderserumalbumin-
lösung für Phenothiazinderivate
nach Scholtan 15
- Abb. 5: Korrelation zwischen der Serumalbuminbindung und dem Verteilungskoeffizienten von Phenothiazinderivaten 20
- Abb. 6: Modell der Bindung von Trimeprazin
an das Albuminmolekül 32

Tab. 1:	Struktur, chemische Bezeichnung, Freiname und Handelsname der in dieser Arbeit untersuchten Arzneimittel	33
Tab. 2:	Symbole, Maßeinheiten und Be- stimmung der verwendeten Para- meter	34
Tab. 3-14:	Einzelwerttabellen	35-47
Tab. 15:	Vergleich von experimentell gefundenem Verteilungskoeffizienten bzw. dessen Logarithmus zwischen n-Octanol und Wasser und dem prozentualen Anteil an freiem, nicht eiweißgebundenen Arzneimittel mit den entsprechenden berechneten Werten der Phenothiazinderivate	48
Tab. 16:	Matrix der α -Wert-Unterschiede der untersuchten Phenothiazin- derivate (Absolutbetrag)	49

A Einführung

a) Bindung von Pharmaka an Serumalbumin

Die meisten Pharmaka sind in unterschiedlichem Maße im Blut an Eiweißkörper der Albuminfraktion gebunden (Goldstein, 1949; Brodie, 1964, 1965; Scholtan, 1962), und diese Bindung beeinflußt ihre Verteilung, Wirkung, Metabolisierung und Ausscheidung (Brodie und Hogben, 1957).

Neben der besonderen Bedeutung für die Pharmakokinetik ist die Serumalbuminbindung aber auch interessant im Hinblick auf die Möglichkeit, Rückschlüsse auf allgemeine Prinzipien der Eiweißbindung ziehen zu können. Außerdem lassen sich zumindest Anhaltspunkte für die Natur von Arzneimittel-Rezeptor-Komplexen gewinnen, unter der Voraussetzung, daß der Rezeptor ein Protein ist.

b) Ursachen der Proteinbindung von niedermolekularen Stoffen

Die Anschauungen darüber, was die wesentlichen Kräfte für die Proteinbindung von niedermolekularen Substanzen sind, haben sich in den letzten Jahren entscheidend geändert. Die Theorie einer primären Ionenbindung von Pharmaka an Eiweiß (Keen, 1966), die durch Befunde einer Reihe weiterer Autoren gestützt schien, welche eine gegenseitige Verdrängung aus der Plasmaproteinbindung vor allem bei anionischen Substanzen gesehen hatten (z.B. Anton, 1961;

Christensen et al., 1963; Büttner und Portwich, 1967), mußte verlassen werden. Man hatte geglaubt, daß Säuren nur durch Säuren und Basen nur durch Basen zu verdrängen wären, weil sich die Eiweißbindung von Sulfonamiden und Penicillinen nicht in Anwesenheit basischer Substanzen änderte. Jähnchen et al. (1969) und Franz et al. (1969) konnten aber über die Verdrängung von Phenothiazinderivaten durch Substanzen wie Benzoesäure und 2,6 - Dihydroxybenzoesäure berichten. Gegen die Richtigkeit der Keen'schen Theorie sprach auch das Phänomen der Eiweißbindung ungeladener Moleküle, da hier ionogene Kräfte auszuschließen sind.

c) Frage nach der Art des Phenothiazin - Albumin - Komplexes

In neueren Veröffentlichungen sind hydrophobe Wechselwirkungen als wesentliche Kräfte gegenüber anderen Ursachen der Eiweißbindung niedermolekularer Stoffe besonders hervorgehoben worden (Bird und Marshall, 1967; Hansch et al., 1962, 1964, 1965; Hansch, 1968; Scholtan et al., 1968). Aufgrund der Ergebnisse in diesen jüngeren Publikationen und wegen der bereits erwähnten Möglichkeit, Hinweise über die Art von Pharmakon - Rezeptor - Komplexen zu finden, sollte nun in der vorliegenden Arbeit die Bindung einiger Phenothiazinderivate an Rinderserumalbumin sowie die Verteilung dieser trizyklischen Psychopharmaka zwischen n-Octanol und Pufferlösung untersucht werden, um so Aufschluß über die Natur des Phenothiazin - Albumin - Komplexes zu erhalten.

B Versuchsstoffe und Methodik

I Versuchsstoffe

Untersucht wurden folgende Phenothiazinderivate:
Promazin (Verophen^R), Promethazin (Atosil^R), Trimeprazin (Repelitin^R), Perazin (Taxilan^R), Desmethyldpromazin und Desmethyldchlorpromazin.

Als Serumalbumin wurde "Albumin vom Rind" (Qualität: trocken, "reinst") der Behringwerke Ag Marburg verwendet. Lösungs- und Elutionsmittel der Pharmaka war 0,02 M Phosphatpufferlösung pH 7,4, die zusätzlich 0,9 % Natriumchlorid und 0,05 % Natriumthiosulfat enthielt (Standardpufferlösung).

II Methodik

1) Bestimmung der Eiweißbindung

Die Bestimmung der Eiweißbindung erfolgte nach Krieglstein und Kuschinsky (1968) mit Hilfe der Sephadexgelfiltration.

a) Das Prinzip der Sephadexgelfiltration

Das Sephadexgel besteht aus nach Wasseraufnahme gequollenen Perlen von dreidimensional verknüpften Polysaccharidketten. Es stellt für Gemische mit Substanzen unterschiedlichen Molekulargewichtes ein Filter dar. Während nämlich Stoffe, die größer als die Poren des Gels sind,

nicht in die Gelperlen eindringen können und rasch eluiert werden, gelangen kleinere Moleküle in die Gelpartikel und verlassen wegen des längeren Weges das Gelsieb später. Krieglstein und Kuschinsky (1968) konnten die Brauchbarkeit dieser Trennmethode auch für reversibel an das Sephadex adsorbierte Pharmaka nachweisen.

Bei den vorliegenden Versuchen war es möglich, durch die Bestimmung des Eiweißgehaltes und der Phenothiazinkonzentration den zeitlichen Ablauf der Auftrennung des Gemisches von freiem in Puffer gelöstem und an Albumin gebundenem Phenothiazinderivat zu beobachten (vgl. Abb. 1):

Die Arzneimittelkonzentration im Eluat erreicht ihren höchsten Wert nach dem Albumingipfel. Es folgt dann ein gemeinsamer Abfall der Albumin- und Phenothiazinkonzentration, während sich kein Albumin mehr im Eluat befindet. Diese zweite Plateauzone repräsentiert somit den Anteil des freien, nicht proteingebundenen Pharmakons des Lösungsansatzes.

b) Durchführung der Versuche

Die Eiweißbindung der Pharmaka wurde in einer 1%igen Albuminlösung ($1,45 \cdot 10^{-4}$ M) untersucht, die Konzentration jedes Phenothiazinderivates wurde von 10^{-5} M bis $4 \cdot 10^{-4}$ M variiert. Vor der Bestimmung der Proteinbindung wurde der pH-Wert der Arzneimittel - Eiweißlösung mit einem Präzisions - pH-Meter (Fa. Knick, Berlin) kontrolliert und gegebenenfalls mit 0,1 N HCl bzw. 0,1 N NaOH auf pH 7,4 nachgestellt.

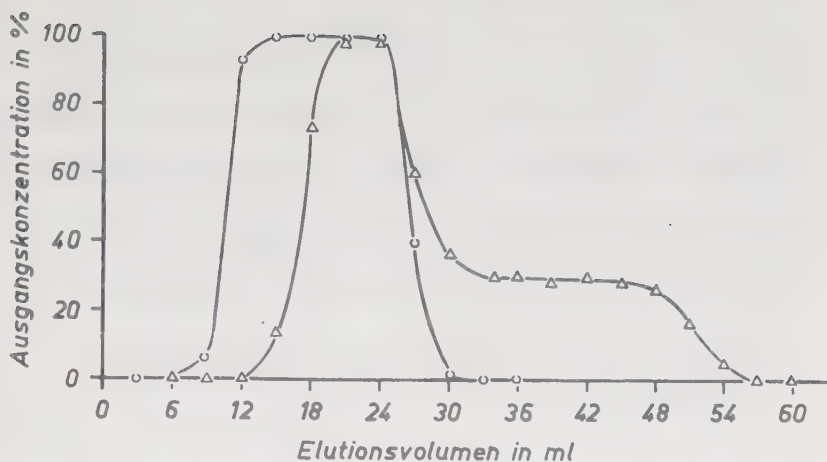


Abb. 1:

Auftrennung einer Promethazin - Rinderserumalbuminlösung durch Gelfiltration auf einer 20 X 1,2 cm Säule aus Sephadex G-50 fine bei 22° C.

Aufgegeben sind 20 ml der 1%igen Proteinlösung, die Promethazin in einer Konzentration von 10^{-4} M enthält.

Ordinate: Prozent der Ausgangskonzentration von Promethazin (Δ — Δ) und Albumin (o — o).

Bei 22° C wurden jeweils 20 ml eines Lösungsansatzes auf 20 X 1,2 cm Säulen aus Sephadex^R G-50 fine (Pharmacia, Uppsala) gebracht. Wegen der Lichtempfindlichkeit der Phenothiazine wurden braune Chromatographierohre verwendet. Das Eluat wurde in Fraktionen zu je 3 ml aufgefangen, die Elutionsgeschwindigkeit war hierbei auf 18 ml/h eingestellt. Der Eiweißgehalt der einzelnen Fraktionen wurde spektrometrisch bestimmt. Bei Versuchsserien wurden die Arzneimittelkonzentrationen nicht in dem gesamten Eluat der Gelfiltration gemessen, sondern nur in den Fraktionen der zweiten Plateauzone mit nicht an Albumin gebundenem Pharmakon. Die Phenothiazinderivate wurden hierzu mit isopentanolhaltigem (1,5 Vol%) n-Heptan extrahiert und die jeweiligen Konzentrationen der Substanzen in 50 %iger Schwefelsäure, welche 10 mg% Fe-III-Cl₃ enthielt, colorimetrisch bestimmt. Die Konzentration des freien Pharmakons wurde als prozentualer Anteil λ der Gesamtkonzentration des Phenothiazinderivates in der Arzneimittel - Eiweißlösung angegeben.

2) Das Verteilungsverhalten der Phenothiazinderivate

a) Hydrophobe Wechselwirkungen

Unter hydrophoben Wechselwirkungen oder hydrophoben Wechselbeziehungen versteht man die Tendenz unpolarer Gruppen in wäßriger Lösung einander zu assoziieren, um dadurch die Zahl der Berührungen mit benachbarten Wassermolekülen zu vermindern. Diese hydrophoben Wechselwirkungen

sind energetisch durch eine Zunahme der Entropie der Wassermoleküle in Umgebung der assoziierten Gruppen begünstigt (Nemethy, 1967). Mehrere Autoren (z.B. Fujita et al., 1964; Hansch et al., 1962, 1964; Scholtan et al., 1968) haben eine Korrelation zwischen dem hydrophoben Charakter einer Substanz und der Eiweißbindung gefunden, wobei das hydrophobe Verhalten in Verteilungsversuchen nach Hansch et al. (1962) bestimmt worden war.

b) Die Untersuchung des hydrophoben Charakters
der Substanzen

Um Aufschluß über analoge Verhältnisse bei Phenothiazin-derivaten zu erhalten, wurden 1 - 3 ml n-Octanol mit 25 ml Standardpuffer, der das jeweilige Pharmakon in einer Konzentration von 10^{-4} M enthielt, eine Stunde mechanisch geschüttelt. Es wurden nur mit n-Octanol gesättigte Pufferlösung und puffergesättigtes n-Octanol verwendet.

Nach scharfer Zentrifugation wurde die Arzneimittelkonzentration in der wäßrigen Phase bestimmt. Die Phenothiazinkonzentration in Octanol ergab sich aus der Differenz der Ausgangskonzentration und der Konzentration in der wäßrigen Phase. Die Messungen der Substanzkonzentrationen wurden an einem Beckmann Photometer durchgeführt. Die Bestimmung der Absorptionen erfolgte für Promethazin und Trimeprazin bei einer Wellenlänge von 246 nm, für Perazin und Desmethylpromazin bei 248 nm und für Desmethylchlorpromazin bei 250 nm. Der Verteilungskoeffizient wurde als

$$P = \frac{c_o}{c_w} \quad \text{berechnet, wobei } c_o \text{ die}$$

Konzentration des Arzneimittels in der organischen, c_w die Konzentration in der wäßrigen Phase bedeutet. Für Promazin, dessen Verteilungsverhalten bereits von Glaßer und Krieglstein (1970) beschrieben worden ist, wurden nur einige orientierende Versuche durchgeführt, um einen Hinweis auf Vergleichbarkeit zu erhalten.

3) Statistik

a) Zweifache Varianzanalyse

Zur statistischen Sicherung der beobachteten Unterschiede der Eiweißbindung wurde eine zweifache Varianzanalyse durchgeführt. Die beiden Faktoren hierbei waren die sechs untersuchten Substanzen und ihre Konzentration. Da jeweils zwei unabhängige Versuche in einem Konzentrationsbereich durchgeführt wurden, gingen insgesamt 156 Einzelwerte in die Berechnungen ein. Die Berechnung wurde im Institut für medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Mainz durchgeführt. Die Berechnung der einzelnen F-Tests erfolgte entsprechend den Darstellungen in verbreiteten Lehrbüchern (z.B. Snedecor, 1956).

b) Tukey-Test

Weil ein signifikantes F nur anzeigt, daß überzufällige Abweichungen von Mittelwerten innerhalb einer Gruppe vorliegen, man jedoch nicht die Anzahl dieser Mittelwerte und auch nicht den jeweiligen sich signifikant unterscheidenden Wert erkennt, wurde im Anschluß an die Varianzanalyse der Tukey-Test durchgeführt (Guilford, 1965).

C Ergebnisse

I Charakterisierung der Eiweißbindung

1) Die Parameter der Eiweißbindung und ihre Bestimmung

a) Die Parameter der Eiweißbindung

Die Eiweißbindung wurde durch folgende Größen charakterisiert: α , der prozentuale Anteil an freiem bzw. β , der prozentuale Anteil an eiweißgebundenem Phenothiazinderivat, die Gesamtbindungskonstante K_1 , die apparente Bindungskonstante k^+ , die Steigungskonstante m und die freie Bindungsenergie F^0 .

b) Das Scatchard - Diagramm

Die Bindungsreaktionen zwischen niedermolekularen Substanzen und dem Protein gehorchen dem Massenwirkungsgesetz (Klotz, 1946; Scholtan, 1962). Aus dem Scatchard - Diagramm (Abb. 3) können die Gesamtbindungskonstante K_1 und die Anzahl n der Bindungsstellen am Albumin bestimmt werden. Die Gesamtbindungskonstante K_1 (Scholtan, 1962), die sich als Schnittpunkt mit der Ordinate ermitteln läßt ($c_f \longrightarrow 0$), ist die Summe aller Einzelbindungskonstanten, die sich aufgrund der unterschiedlichen Affinitäten eines Pharmakons zu den verschiedenen Gruppen von Bindungsstellen am Protein ergeben. K_1 ist unabhängig von der Arzneimittelkonzentration und dient zur Berechnung der freien Reaktionsenergie.

F^0 ($F^0 = RT \cdot \ln K_1$). Auf eine Bestimmung der Anzahl der Bindungsstellen am Albuminmolekül wurde verzichtet, weil in den durchgeführten Versuchen die Eiweißbindung nur bei niedrigen Arzneimittelkonzentrationen bestimmt wurde. Die Extrapolation der Ergebnisse unter diesen Versuchsbedingungen auf Bindungsverhältnisse bei sehr hohen Pharmakakonzentrationen ($c_f \longrightarrow \infty$) im Sättigungsbereich des Albumins erschien zu unsicher. Auch konnten Jähnchen et al. (1969) für Promazin und Chlorpromazin zeigen, daß sogar bei Sättigung der Proteinlösung mit diesen Phenothiazinderivaten keine Sättigung der Bindungsstellen am Albumin erfolgt.

c) Die Darstellung der Eiweißbindungsversuche nach Scholtan

Die Eiweißbindungsversuche lassen sich in einem doppellogarithmischen System nach der Gleichung $\log c_g = \log k^+ + m \log c_f$ durch gerade Linien darstellen (Scholtan, 1962). Hierbei sind c_g die gebundene und c_f die freie Arzneimittelkonzentration, k^+ die apparente Bindungskonstante, welche die Bindungsfähigkeit des Pharmakon in dem jeweils untersuchten Konzentrationsbereich angibt, m die Steigungskonstante als Maß für die aufeinanderfolgenden Bindungskonstanten. Der Vorteil dieses Diagramms besteht darin, daß k^+ und m ohne Extrapolation auf einen Grenzwert bestimmt werden können.

2) Die Eiweißbindung der untersuchten Phenothiazinderivate

Der prozentuale Anteil β an eiweißgebundenem Phenothiazin liegt bei Promazin deutlich niedriger als bei Promethazin, Trimeprazin, Desmethylchlorpromazin und Perazin. Vom Promazin unterscheidet sich das stärker gebundene Promethazin nur durch Stellungsisomerie. Trimeprazin, das mit einer zusätzlichen Methylgruppe in der Seitenkette größer als die beiden Stellungsisomere ist, zeigt zu dem Rinderserumalbumin eine ebenso hohe Affinität wie Promethazin. Gegenüber diesen Veränderungen der Eiweißbindung bei unterschiedlichem Molekülaufbau findet sich für das Demethylierungsprodukt von Promazin im Vergleich zur Ausgangssubstanz eine gleich starke Bindung an das Albumin. Eine ähnliche Beobachtung kann man bei dem Paar Chlorpromazin und Desmethylchlorpromazin machen. Chlorpromazin hat eine sehr hohe Affinität zu dem Albumin. Nach der Demethylierung zeigt sich im Verhältnis zu dem sehr beträchtlichen Unterschied der Eiweißbindung bei Trimeprazin gegenüber der des Promazin eine nur geringe Änderung des β -Wertes.

Perazin, das ebenso wie Chlorpromazin eine sehr starke Bindung aufweist, ist als Molekül durch die Substitution eines methylierten Piperazinringes wesentlich größer als Promazin, welches deutlich schwächer an das Rinderserumalbumin gebunden ist.

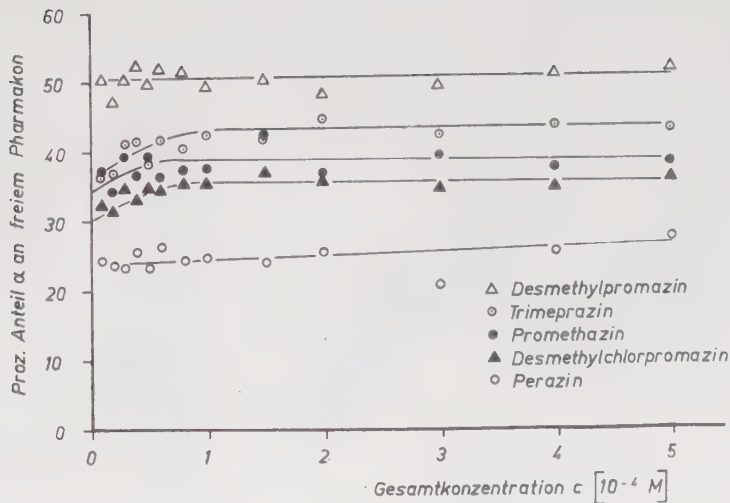


Abb. 2:

Proteinbindung der Phenothiazinderivate bei verschiedenen Arzneimittelkonzentrationen in 1 %iger Rinderserumalbuminlösung (pH 7,4, 22° C).

Ordinate: Prozentualer Anteil α des freien Arzneimittels.

Abszisse: Gesamtkonzentration des Phenothiazinderivates (10^{-4} M). Jeder Punkt stellt den Mittelwert aus zwei unabhängigen Messungen dar.

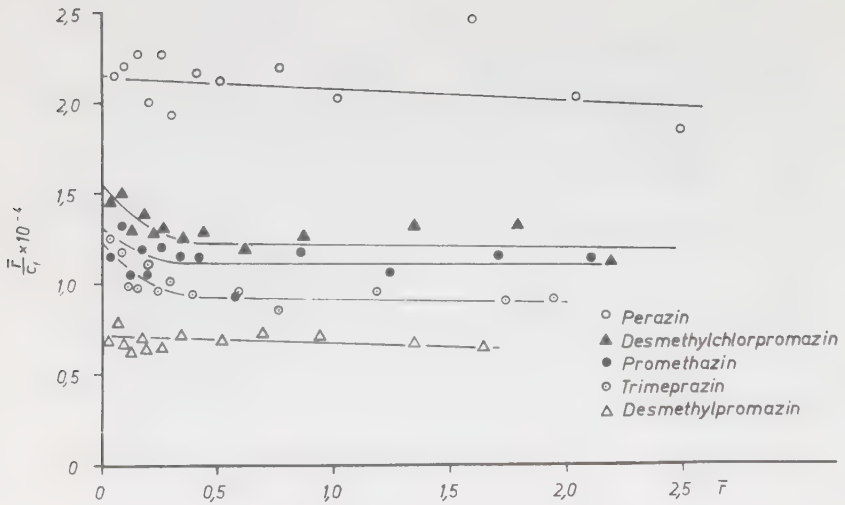


Abb. 3:

Scatcharddarstellung der Serumalbuminbindung von Pheno-
thiazinderivaten.

Ordinate: Der Quotient $\frac{\bar{r}}{c_f}$ (10^{-4} M); c_f = Molare

Konzentration an freiem Phenothiazinderivat.

Abszisse: $\bar{r}$ = Anzahl der Phenothiazinmoleküle pro
Albuminmolekül.

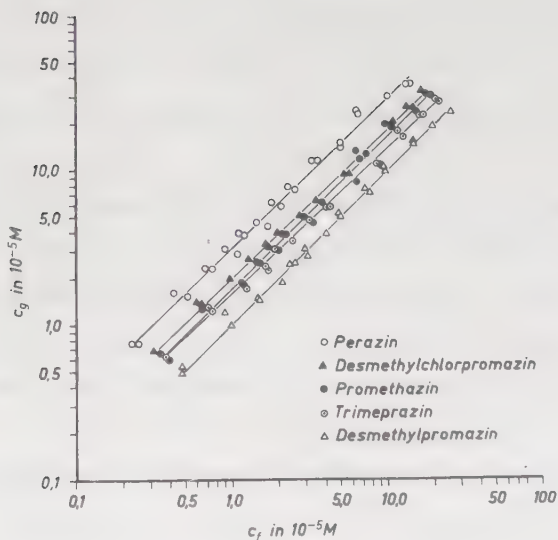


Abb. 4:

Darstellung des Bindungsvermögens einer 1 %igen Rinder-serumalbuminlösung für Phenothiazinderivate nach Scholtan. Ordinate: Konzentration an gebundenem Arzneimittel ($10^{-5}M$). Abszisse: Konzentration an freiem Phenothiazinderivat ($10^{-5}M$). Die Konzentrationen sind im doppellogarithmischen Maßstab angegeben. Jeder Punkt stellt einen Einzelmeßwert dar.

II Der hydrophobe Charakter der untersuchten Substanzen und die Substituentenkonstante σ

1) Der hydrophobe Charakter

a) Die Dissoziation der Phenothiazinderivate

Der hydrophobe Charakter der Phenothiazinderivate wurde nach Hansch et al. (1962) durch den Verteilungskoeffizienten P zwischen n-Octanol und Pufferlösung angegeben. Dabei wurde auf eine Korrektur der Verteilungskoeffizienten mit dem Dissoziationsgrad verzichtet, weil die untersuchten Arzneimittel bei pH 7,4 zu mehr als 99 % dissoziiert sind und durch zu große Korrekturfaktoren die Streuung der Werte erheblich vergrößert worden wäre (vgl. Scholtan, 1968). Außerdem schien die Vergleichbarkeit der von verschiedenen Untersuchern gefundenen pK - Werte zweifelhaft.

b) Die Hydrophobie der untersuchten Substanzen

Das mit Promazin stellungsisomere Promethazin, welches eine wesentlich höhere Affinität zum Rinderserumalbumin als das erstere hat, weist auch eine erheblich größere Hydrophobie als dieses auf. Der P-Wert für Promethazin beträgt mehr als das Doppelte von dem des Promazin. Trimeprazin und Perazin, die sich von Promazin durch eine Vergrößerung bzw. Verlängerung der Seitenkette und eine

stärkere Eiweißbindung unterscheiden, besitzen ebenfalls einen größeren P-Wert als die Substanz mit dem niedrigeren Molekulargewicht. Im Gegensatz zu Trimeprazin und Perazin zeigen die monodemethylierten Substanzen Desmethylpromazin und Desmethylchlorpromazin nur eine sehr geringe Hydrophobie. Der P-Wert liegt in beiden Fällen bei etwa einem Zehntel von dem der nicht demethylierten Verbindungen, während die Eiweißbindung der Ausgangssubstanzen sich von der des jeweiligen demethylierten Produktes nicht oder nicht sehr wesentlich unterscheidet.

2) Die Substituentenkonstante $\overline{\pi}$

a) Korrelation zwischen Hydrophobie und Eiweißbindung

Von Hansch et al. (1962) wurde die Substituentenkonstante $\overline{\pi}$ als Logarithmus des Verteilungskoeffizienten einer substituierten Gruppe definiert. Diese Konstante ergibt sich als Differenz aus dem Logarithmus des Verteilungskoeffizienten eines Derivates und seiner Ausgangssubstanz. $\overline{\pi} = \log P_s - \log P_o$, wobei P_s der Verteilungskoeffizient des Derivates und P_o derjenige der Ausgangssubstanz ist. $\overline{\pi}$ gibt somit die Änderung des hydrophoben Charakters einer Substanz nach Substitution an. Der Logarithmus des Verteilungskoeffizienten P wird mit $\sum \overline{\pi}$ bezeichnet. Der Wert $\sum \overline{\pi}$ eines Derivates kann aus dem experimentell gewonnenen Verteilungskoeffizienten P ($\sum \overline{\pi}$ Exp.) oder mittels der in der Literatur angegebenen Substituentenkon-

stanten ($\sum \overline{\pi}_{\text{Lit.}}$) errechnet werden.

Glaßer und Krieglstein (1970) haben eine Regressionsgerade für fünf in 2-Stellung substituierte Phenothiazinderivate angegeben, worin der Logarithmus des Quotienten aus β und α in Abhängigkeit von $\sum \overline{\pi}$ dargestellt ist. In dieser linearen Beziehung wird das Verhältnis zwischen an Albumin gebundenem und in Standardpuffer gelöstem Pharmakon direkt mit der Verteilung des Arzneimittels zwischen n-Octanol und Pufferlösung verknüpft. Eine derartige Korrelation ist nach Scholtan (1968) nur für Pharmaka innerhalb einer Stoffklasse zu erwarten. Es ist nun möglich, für die Phenothiazinderivate, die eine solche einheitliche Gruppe von Substanzen darstellen, nur mit Hilfe der Gleichung dieser Geraden und $\sum \overline{\pi}_{\text{Lit.}}$ die Eiweißbindung ohne ein einziges Experiment zu berechnen. Ein Vergleich der entsprechenden Werte, wie in Tab. 15, zeigt, daß diese Berechnung eine erstaunlich genaue Voraussage erlaubt. Für Promethazin, Perazin und die beiden demethylierten Derivate findet sich jedoch ein großer Unterschied zwischen errechnetem und experimentell bestimmtem α -Wert. Die Differenz der α -Werte bei Promethazin beruht auf der relativ großen Differenz zwischen dem aus der Literatur erhaltenen $\sum \overline{\pi}$ und dem aus den Verteilungsversuchen gewonnenen logP. Dies trifft aber nicht für die drei anderen Phenothiazinderivate zu.

b) Graphische Darstellung der Verknüpfung von
Serumalbuminbindung und Verteilungsverhalten

In Abb. 4 sind die Verhältnisse graphisch dargestellt: Die von Glaßer und Krieglstein (1970) angegebene Gerade $\log \frac{\beta}{\alpha} = -1,348 + 0,540 \sum \pi$; $n = 5$; $r = 0,969$ wurde für die in C-2 substituierten Phenothiazinderivate Trifluorpromazin, Chlorpromazin, Methopromazin, Acepromazin und für Promazin berechnet. Promethazin und Trimeprazin scheinen ebenfalls dieser Geraden anzugehören. Dagegen liegen Perazin, Desmethylchlorpromazin und Desmethylpromazin relativ weit von dieser Geraden entfernt. In der Darstellung wird durch den Vergleich der Eiweißbindung mit dem Verteilungskoeffizienten eine Differenzierung der Phenothiazinderivate im Hinblick auf das Vorliegen der von den beiden Autoren gefundenen Verknüpfung von Hydrophobie und Affinität zum Albumin ermöglicht. Eine Korrelation zwischen hydrophobem Charakter und der Eiweißbindung wie bei den in C-2 substituierten Phenothiazinderivaten, für die diese Gerade berechnet wurde, besteht nur für Promethazin und Trimeprazin. Die größere Entfernung von Perazin und den beiden demethylierten Verbindungen zur Regressionsgeraden zeigt sich zahlenmäßig in den beträchtlichen Unterschieden zwischen den berechneten und den experimentell bestimmten α -Werten. In allen drei Fällen ist die Eiweißbindung wesentlich größer als erwartet.

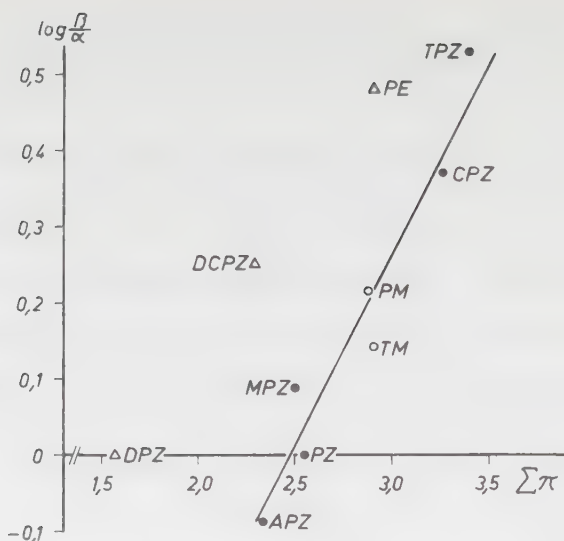


Abb. 5:

Korrelation zwischen der Serumalbuminbindung und dem Verteilungskoeffizienten von Phenothiazinderivaten. Ordinate: $\log \frac{D}{\alpha} \cdot \beta$ = prozentualer Anteil des gebundenen Phenothiazinderivates, α = prozentualer Anteil des freien Phenothiazinderivates. Die Experimente wurden in 1 %iger Albuminlösung durchgeführt (pH 7,4; 22° C).

Abszisse $\log P$. P = Verteilungskoeffizient zwischen n-Octanol und Pufferlösung. $\log P = \sum \pi$. Erläuterungen zu $\sum \pi$ und π , der Substituentenkonstanten s. Text.

APZ = Acepromazin", PZ = Promazin", MPZ = Methopromazin", CPZ = Chlorpromazin", TPZ = Triflupromazin", TM = Trimeprazin, PM = Promethazin, PE = Perazin, DPZ = Desmethylpromazin, DCPZ = Desmethylchlorpromazin.

" Nur für diese fünf Substanzen ist die Gleichung der Regressionsgeraden berechnet.

III Statistik

Die zur statistischen Prüfung der Ergebnisse der Eiweißbindung der Phenothiazinderivate durchgeführte zweifache Varianzanalyse ergab die folgenden F-Quotienten:

$$F_1 = \frac{MAQ_s}{MAQ_i} ; F_2 = \frac{MAQ_c}{MAQ_i} ; F_3 = \frac{MAQ_w}{MAQ_i}$$

(MAQ = mittleres Abweichungsquadrat, s = Substanzen oder 1. Einflußgröße, c = Konzentrationen oder 2. Einflußgröße, i = innerhalb der Klassen, w = Wechselwirkungen). Es fanden sich für diese F-Werte:

- 1) $F_1 = 780,35$ mit $F_{0,01; 5/78} = 3,26$ signifikant
- 2) $F_2 = 6,85$ mit $F_{0,01; 12/78} = 2,42$ signifikant
- 3) $F_3 = 1,64$ mit $F_{0,01; 60/78} = 1,76$ nicht signifikant

Hieraus geht hervor, daß beide Einflußgrößen signifikante Veränderungen bewirken. Die hochsignifikanten Unterschiede innerhalb der Klasse der Substanzen wurden weiter untersucht, im Hinblick darauf, ob eine Abgrenzung der Phenothiazine voneinander aufgrund ihrer unterschiedlichen Albuminbindung zu erkennen wäre. Der zur Differenzierung der signifikanten Mittelwerte angewandte Tukey-Test ergab den Betrag 1,81 bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von einem Prozent. Ein signifikanter Unterschied in der Eiweißbindung war somit für alle Phenothiazine gegeben, deren Mittelwertdifferenzen diesen Betrag überschritten. Zur übersichtlichen Darstellung wurden diese Mittelwertdifferenzen in einer Matrix aufgenommen. Es ist mit Hilfe dieser

Matrix unschwer zu erkennen, daß mit Ausnahme des Paares Promazin und Desmethylpromazin signifikante Unterschiede in der Eiweißbindung der untersuchten Substanzen bestehen (s. Tabelle 16).

D Diskussion

I Hinweise aus der Literatur über die Art der Proteinbindung

1) Unterschiedliche Kräfte als Ursache für die Proteinbindung von Pharmaka

Für die Proteinbindung von Arzneimitteln sind sehr unterschiedliche Kräfte zu berücksichtigen, wie hydrophobe Wechselwirkungen, ionogene Bindungen, Wasserstoffbrückenbindungen, sterische Effekte (Glaßer und Kriegelstein, 1970; Scholtan, 1968).

Eine maßgebliche Beteiligung hydrophober Bindungskräfte an der Serumalbuminbindung von verschiedenen niedermolekularen Substanzen ist von einer Reihe von Autoren herausgestellt worden (Hansch et al., 1962, 1964, 1965; Hansch, 1968; Scholtan et al., 1968; Bird und Marshall, 1967). Diese Autoren fanden, daß die Eiweißbindung der untersuchten Stoffe jeweils mit dem nach Hansch et al. (1962) bestimmten Verteilungskoeffizienten korreliert war.

2) Hydrophobe Wechselwirkungen bei der Bindung von Phenothiazinderivaten an Rinderserumalbumin

Mehrere Ergebnisse verschiedener Untersucher deuten auf hydrophobe Wechselwirkungen der aromatischen Ringe der Phenothiazinderivate mit dem Albumin. So wurde eine Verstärkung der Proteinbindung dieser Substanzen nach

Halogensubstitution bei gleichzeitiger Zunahme des hydrophoben Charakters gesehen (Glaßer und Krieglstein, 1970). Der Dissoziationsgrad der Dimethylaminogruppe war durch die Substitution im Ringsystem (Cl, F in C-2) dabei nicht verändert (Green, 1967). Es war möglich durch einfache aromatische Substanzen wie Anilin, Benzoesäure und Acetylsalicylsäure Phenothiazinderivate kompetitiv aus der Bindung an das Albumin zu verdrängen (Jähnchen et al., 1969, Franz et al., 1969). Dagegen konnte keine Verdrängung dieser Psychopharmaka aus ihrer Eiweißbindung mit alizyklischen Stoffen nachgewiesen werden (Jähnchen et al., 1969). Vergleichende Untersuchungen bei Promazin und Chlorpromazin ergaben, daß nur jeweils einer der beiden Benzolringe des Phenothiazingerüsts an das Albumin gebunden ist.

II Abhängigkeit der Eiweißbindung der Phenothiazin- derivate von der Struktur der Seitenkette

1) Das Verhalten von Promazin als Bezugsgröße

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Phenothiazin-derivate unterscheiden sich durch die Struktur der basischen Seitenkette, wobei im Fall des Desmethylchlorpromazin die Cl-Substitution in C-2 des Trizyklus zu berücksichtigen ist. Als Bezugssubstanz zum Vergleich der Eiweißbindung und der Hydrophobie der Phenothiazine bietet sich Promazin an, das in C-2 des Ringsystems als Substituenten ein Wasserstoffatom trägt und dessen Seitenkette ebenfalls keine Besonderheiten aufweist. Für diese Substanz, deren Bindungsverhalten bereits von Krieglstein und Kuschinsky (1969) und deren Verteilung zwischen n-Octanol und Wasser von Glaßer und Krieglstein (1970) beschrieben worden ist, wurden neben der Charakteristik der Eiweißbindung nur einige orientierende Verteilungsversuche durchgeführt, um so einen Hinweis auf Vergleichbarkeit zu erhalten. Diese Vergleichbarkeit liegt vor. Die hier gefundenen Ergebnisse decken sich mit denen der früheren Untersucher.

2) Proteinbindung aliphatischer Ketten

a) Literaturhinweise

Für eine mögliche Veränderung der Eiweißbindung gegenüber Promazin aufgrund von Abweichungen in der Struktur der

Seitenkette gibt es Anhaltspunkte aus Untersuchungen über das Bindungsverhalten anderer niedermolekularer Stoffe. So wäre mit der Vergrößerung der aliphatischen Kette im Einklang mit einer Reihe von Autoren (Fredericq, 1954, 1955; Scholtan, 1964; Hofmann et al., 1970), die eine Verstärkung der Eiweißbindung mit jeder weiteren CH_3 - oder CH_2 -Gruppe fanden, ein höherer β -Wert der Phenothiazine zu erwarten.

b) Eiweißbindung von Promethazin und Trimeprazin

Eine derartige Zunahme der Bindung zeigt sich für Trimeprazin im Vergleich zu Promazin. Überraschend ist jedoch der große Anstieg der Affinität zum Albumin bei Promethazin gegenüber dem stellungsisomeren Promazin. Das um eine CH_2 -Gruppe kleinere Promethazin ist etwa gleich stark wie Trimeprazin an das Albumin gebunden. Die beiden Substanzen unterscheiden sich von Promazin aber durch jeweils eine Methylgruppe in der Seitenkette und, einhergehend mit der stärkeren Albuminbindung, durch eine deutliche Veränderung des hydrophoben Charakters. In beiden Fällen beträgt der P-Wert mehr als das Doppelte von dem des Promazin. Der Effekt einer Methylgruppe in der Seitenkette der Phenothiazinderivate gegenüber demjenigen einer einfachen Verlängerung der Kette durch eine weitere CH_2 -Gruppe ist auffallend.

3) Stereometrie von Phenothiazinderivaten

a) Untersuchungen mit Hilfe von Elektronen- Spin-Resonanz-Spektroskopie

Fenner (1970) untersuchte mit Hilfe von Elektronen - Spin - Resonanz - Spektroskopie (ESR-Spektroskopie) die Stereometrie von Phenothiazinderivaten. Er konnte dabei zwei Strukturformen unterscheiden: Eine "quasi-äquatoriale" und eine "quasi-axiale", wobei "quasi-äquatorial" bedeutet, daß sich die Seitenkette mit dem mittleren Ring des Trizyklus in einer Ebene befindet, während bei der "quasi-axialen" Form eine rechtwinklige Abknickung vorliegt. Bei Phenothiazinderivaten mit unverzweigter Seitenkette (z.B. Promazin und Chlorpromazin) fand sich ein Gleichgewicht zwischen "Quasi-axial" und "quasi-äquatorial", wogegen bei Verzweigung in diesem Molekülabschnitt die "quasi-axiale" Form fast ausschließlich nachweisbar war.

b) Stereometrie bei Promethazin und Trimeprazin

Trimeprazin hat eine solche Verzweigung in der Seitenkette. Es ist denkbar, daß diese verzweigte Seitenkette in eine zur Aufnahme neuer Wechselbeziehungen günstige Position gelangt und dadurch die Eiweißbindung beeinflusst. Im Fall des Promethazin liegt keine wirkliche Verzweigung der Seitenkette vor, es handelt sich lediglich um eine Stellungs-isomerie mit Promazin. Ob dennoch und in welchem Ausmaß

eine Bevorzugung der axialen Form bei der stärker gebundenen Substanz vorliegt, bleibt weiteren Untersuchungen überlassen.

c) Bindung der aliphatischen Seitenkette an Protein

Im Einklang mit den Befunden von Fenner (1970) konnte die mit dem hydrophoben Charakter verknüpfte Verstärkung der Proteinbindung von Promethazin und Trimeprazin im Vergleich zu Promazin so interpretiert werden:

Der aliphatische Teil der Seitenkette zwischen N₁₀ und dem dimethylierten Stickstoff trägt nicht oder nur gering zur Haftung am Albuminmolekül bei; eine Methylgruppe in dieser Kette ermöglicht aber durch ihre sterische Anordnung weitere Wechselwirkungen zwischen dem Phenothiazinderivat und dem Protein.

4) Desmethylpromazin, Desmethylchlorpromazin
und Perazin

Scholtan (1964) hatte bei der Demethylierung von Substanzen eine starke Abnahme der Eiweißbindung gefunden. Entsprechend wäre nach der Demethylierung von Promazin und Chlorpromazin mit einer deutlichen Verminderung der Bindung zu rechnen. Im Gegensatz zur Abnahme des hydrophoben Charakters auf etwa ein Zehntel der P-Werte zeigt sich aber keine bzw. nur eine relativ geringe Änderung in der Proteinbindung der demethylierten Derivate. Es

findet sich also für diese beiden Paare nicht die Verknüpfung von Hydrophobie und Eiweißbindung, wie sie bei Promethazin und Trimeprazin vorliegt. Während bei den letzteren der Unterschied einer Methylgruppe in der Seitenkette (als echte Verzweigung oder stellungsbedingt) die Bindung an das Rinderserumalbumin erheblich beeinflusst, zeigt sich für Desmethylpromazin und Desmethylchlorpromazin kein statistisch signifikanter bzw. nur ein kleiner Effekt. Dieses andere Verhalten könnte etwa so gedeutet werden, daß in dem Maße wie die hydrophoben Bindungskräfte abnehmen, der Anteil von nicht hydrophoben Bindungen wächst. Es wird hierbei besonders an die Wirkung ionogener Kräfte zu denken sein. Ein Hinweis dafür ist durch den Unterschied der pK-Werte gegeben, die im Fall der demethylierten Verbindungen größer sind als bei den Ausgangssubstanzen. Bei der Untersuchung von Imipramin und Desipramin fanden Glaßer und Krieglstein (1970) im Vergleich mit C-2 substituierten Phenothiazinderivaten ganz ähnlich ein Fehlen einer gleichartigen Korrelation zwischen dem Verteilungskoeffizienten der beiden phenothiazinähnlichen Substanzen und der jeweiligen Proteinbindung.

Für Perazin, das bei etwa ebenso großem P-Wert wesentlich stärker als Trimeprazin an das Albumin gebunden ist, sind wie für Desmethylpromazin und Desmethylchlorpromazin starke nicht hydrophobe Bindungskräfte anzunehmen.

Die gemeinsame Diskrepanz zwischen Eiweißbindung und hydrophobem Charakter der beiden demethylierten Substanzen

zeigt sich graphisch in der Darstellung der Beziehung von $\log B/\alpha$ und $\sum \bar{\pi}$. Beide Substanzen liegen etwas weiter entfernt von der Geraden, die für die in 2-Stellung substituierten Phenothiazinderivate berechnet ist. Perazin liegt ebenfalls nicht in der Nähe dieser Geraden. Auch für dieses in der Seitenkette methylpiperazin-substituierte Phenothiazinderivat besteht keine Korrelation im Sinne der von Glaßer und Krieglstein (1970) gefundenen Regression.

5) Effekte der Seitenkette bei der Verdrängung von Phenothiazinderivaten aus der Bindung an Albumin

Beobachtungen bei Verdrängungsversuchen mit Hydroxyzin und Acetylsäure (Meiler, 1972) geben ebenfalls einen Hinweis auf eine stärkere Bindung der Seitenkette bei Perazin und den demethylierten Phenothiazinderivaten.

Mit Hydroxyzin konnte eine Verdrängung von Perazin, nicht aber von Chlorpromazin nachgewiesen werden. Bei Anwesenheit von Acetylsalicylsäure nahm die Eiweißbindung von Chlorpromazin, jedoch nicht die von Desmethylchlorpromazin ab. Für die Verdrängung von Perazin durch Hydroxyzin ist anzunehmen, daß es zu einer Konkurrenz am Albumin kommt. Die Bindung des Chlorpromazin, die vorwiegend durch den Cl-substituierten Benzolring erfolgt, wird durch das vermutlich sehr stark über den Piperazinring gebundene Hydroxyzin nicht beeinträchtigt. Die Beeinflussung der Eiweißbindung von Chlorpromazin durch Acetylsalicylsäure steht im Einklang mit Ergebnissen von Jähnchen et al. (1969),

die eine Verdrängung von Promazin durch diese einfache aromatische Verbindung fanden. Das Ausbleiben einer Änderung der Proteinbindung von Desmethylchlorpromazin in Anwesenheit von Acetylsalicylsäure, läßt sich zwanglos mit einer beträchtlichen nicht durch hydrophobe Wechselwirkungen bedingten Affinität der Seitenkette der demethylierten Verbindung zum Albumin erklären.

6) Ein Modell der Eiweißbindung von Phenothiazinderivaten

Die vorstehenden Ergebnisse und Überlegungen lassen folgendes Modell der Eiweißbindung von Phenothiazinderivaten möglich erscheinen: Jeweils ein aromatischer Ring des Phenothiazintrizyklus steht in hydrophober Wechselwirkung mit dem Albumin, während der basische Teil der Seitenkette durch Ionenbindung an der Eiweißoberfläche gebunden ist. Der aliphatische Abschnitt dieser Kette weist keine starke Bindung zum Protein auf. Erst eine Methylgruppe in diesem Seitenkettenstück führt zu zusätzlichen hydrophoben Wechselwirkungen zwischen Phenothiazinderivat und Eiweißmolekülen.

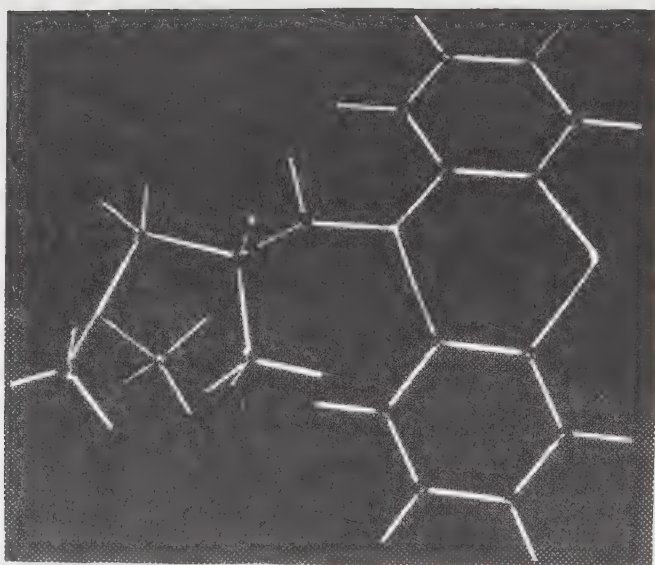
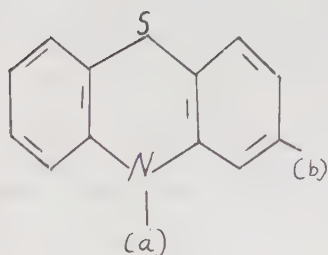


Abb. 6:

Modell der Bindung von Trimeprazin an das Albuminmolekül. Nur ein Benzolring des Trizyklus, die Methylgruppe in der Seitenkette und die Dimethylaminogruppe sind an der Oberfläche des Albuminmoleküls gebunden. Die punktierte Fläche stellt das Albuminmolekül dar.

Tab. 1: Struktur, chemische Bezeichnung, Freiname und Handelsname der in dieser Arbeit untersuchten Arzneimittel.



Allgemeine Struktur eines
Phenothiazins

a = Seitenkette

b = Substituent in C-2 des
Ringsystems

a	b	Chemische Bezeichnung	Freiname	Handelsname
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N} \begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$	-H	10-(3'-dimethyl- amino-propyl)- phenothiazin- hydrochlorid	Promazin	Verophen ^R
$-\text{CH}_2-\text{CH} \begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix} -\text{N} \begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$	-H	10-(2'-dimethyl- amino-propyl)- phenothiazin- hydrochlorid	Promethazin	Atosil ^R
$-\text{CH}_2-\text{CH} \begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix} -\text{CH}_2-\text{N} \begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$	-H	10-(2'-methyl- 3'-dimethyl- amino-propyl)- phenothiazin- hydrochlorid	Trimeprazin	Repelitin ^R
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N} \begin{smallmatrix} \text{H} \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$	-H	10-(3'-methyl- amino-propyl)- phenothiazin- hydrochlorid	Desmethyl- promazin	-
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N} \begin{smallmatrix} \text{H} \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$	-Cl	10-(3'-methyl- amino-propyl)- 3-chlor-pheno- thiazin-hydro- chlorid	Desmethyl- chlorpromazin	-
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N} \begin{smallmatrix} \text{H} \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$	-H	10- 3'-(1''-me- thyl-4''-piper- azinyI)-propyl- phenothiazin- maleat	Perazin	Taxilar ^R

Tab. 2: Symbole, Maßeinheiten und Bestimmungsmethoden der verwendeten Parameter.

Parameter	Symbol	Maßeinheit	Bestimmung
Phenothiazingesamt-konzentration	c	M	Einwaage, Photometrie
Konzentration an freiem Phenothiazinderivat	c_f	M	Gelfiltration
Konzentration an gebundenem Phenothiazinderivat	c_g	M	$c_g = c - c_f$
Albuminkonzentration	c_a	M	Einwaage, Refraktometrie
Prozentualer Anteil an freiem Phenothiazinderivat	α	%	Gelfiltration
Prozentualer Anteil an gebundenem Phenothiazinderivat	β	%	Gelfiltration
Spezifische Bindungskapazität	$\bar{r}$	M/M	$\bar{r} = \frac{c_b}{c_a}$
Steigungskonstante	m	-	Abb. 4
Apparente Bindungskonstante	k^+	$(10^{-5}M)^{1-m}$	$k^+ = \frac{c_b}{c_f}$
Gesamtbindungskonstante	K_1	$10^4 M^{-1}$	Scatchard-Diagramm
Freie Bindungsenergie	F^0	Cal/M	$F^0 = -RT \ln K_1$
Verteilungskoeffizient	f	M/M	Verteilungsversuch

Einzelwerttabellen

(Tabellen 3-14)

Die nachstehenden 12 Tabellen enthalten die Einzelwerte aus den Versuchen zur Charakterisierung der Eiweißbindung der Phenothiazinderivate. Mit Hilfe der jeweiligen Gesamtkonzentration c einer Substanz (variierend zwischen $5 \cdot 10^{-4}M$ und $10^{-5}M$) und des aus dem Versuch erhaltenen prozentualen Anteils α , des freien, nicht an Albumin gebundenen Pharmakon, wurden die Parameter für die graphischen Darstellungen nach Scatchard und Scholtan berechnet. Die Doppelbestimmungen der α -Werte für jede Gesamtkonzentration einer Substanz sind unabhängig voneinander.

c = Phenothiazingesamtkonzentration, α = prozentualer Anteil an freiem Phenothiazinderivat, c_f = Konzentration an freiem Phenothiazinderivat, c_g = Konzentration an gebundenem Phenothiazinderivat, $\bar{r}$ = spezifische Bindungskapazität.

$(10^{-4}M)$	α	c_f	$1g\ c_f\ (10^{-5}M)$	c_g	$1g\ c_g\ (10^{-5}M)$	$\bar{r}$	$\frac{\bar{r}}{c_f}$	$\frac{1}{\bar{r}}$	$\frac{1}{c_f}$
5	48,7	2,4350	1,38650	2,5650	1,40909	1,7690	0,7265	0,5653	0,4107
4	49,7	1,9880	1,29842	2,0120	1,30363	1,3876	0,6980	0,7207	0,5030
3	51,3	1,5390	1,18724	1,4610	1,16465	1,0076	0,6547	0,9925	0,6498
2	49,3	0,9860	0,99388	1,0140	1,00604	0,6993	0,7092	1,4300	1,0142
1,5	51,1	0,7665	0,88451	0,7335	0,86540	0,5059	0,6600	1,9767	1,3046
1	51,3	0,5130	0,71012	0,4870	0,68753	0,3359	0,6547	2,9771	1,9493
0,8	51,0	0,4080	0,61066	0,3920	0,59329	0,2703	0,6626	1,4225	2,4510
0,6	49,5	0,2970	0,47276	0,3030	0,48144	0,2090	0,7036	4,7847	3,3670
0,5	52,1	0,2605	0,41581	0,2395	0,37931	0,1652	0,6340	6,0533	3,8388
0,4	48,8	0,1952	0,29048	0,2048	0,31133	0,1412	0,7236	7,0822	5,1230
0,3	50,7	0,1521	0,18213	0,1479	0,16997	0,1020	0,67061	9,8039	6,5746
0,2	44,7	0,0894	-0,04866	0,1106	0,04376	0,0763	0,8570	13,1062	11,1857
0,1	45,0	0,0450	-0,34679	0,0550	-0,25964	0,0379	0,8429	26,3852	22,2222

Tab. 4: (Erklärung s.S. 35)

Promazin (II)

$c \text{ (} 10^{-4} \text{M)}$	α	c_f	$1g \text{ } c_f \text{ (} 10^{-5} \text{M)}$	c_g	$1g \text{ } c_g \text{ (} 10^{-5} \text{M)}$	$\bar{x}$	$\frac{\bar{x}}{c_f}$	$\frac{1}{\bar{x}}$	$\frac{1}{c_f}$
5	49,8	2,4900	1,39620	2,5100	1,39967	1,7310	0,6952	0,5777	0,4016
4	46,5	1,8600	1,26951	2,1400	1,33041	1,4759	0,7935	0,6776	0,5376
3	51,2	1,5360	1,18639	1,4640	1,16554	1,0097	0,6573	0,9904	0,6510
2	50,6	1,0120	1,00518	0,9880	0,99476	0,6814	0,6733	1,852	0,9881
1,5	50,3	0,7545	0,87766	0,7455	0,87245	0,5141	0,6814	1,9451	1,3254
1	50,5	0,5050	0,70329	0,4950	0,69461	0,3414	0,6760	2,9294	1,9802
0,8	50,6	0,4048	0,60724	0,3952	0,59682	0,2726	0,6733	3,6684	2,4704
0,6	48,7	0,2922	0,46568	0,3078	0,48827	0,2123	0,7265	4,7103	3,4223
0,5	51,2	0,2560	0,40824	0,2440	0,38739	0,1683	0,6573	5,9418	3,9063
0,4	49,8	0,1992	0,29929	0,2008	0,30276	0,1385	0,6952	7,2202	5,0201
0,3	48,3	0,1449	0,16107	0,1551	0,19061	0,1070	0,7382	9,3458	6,9013
0,2	46,5	0,0930	-0,03152	0,1070	0,02938	0,0738	0,7934	13,5501	10,7527

Tab. 5: (Erklärung s.S. 35)

Promethazin (I)

λ (10^{-4}M)	α	c_f	$1g\ c_f$ (10^{-5}M)	c_g	$1g\ c_g$ (10^{-5}M)	$\bar{r}$	$\frac{\bar{r}}{c_f}$	$\frac{1}{\bar{r}}$	$\frac{1}{c_f}$
5	39,6	1,9800	1,29667	3,0200	1,48001	2,0828	1,0519	0,4801	0,5051
4	39,0	1,5600	1,19312	2,4440	1,38810	1,6828	1,0787	0,5942	0,6410
3	42,8	1,2840	1,10857	1,7160	1,23452	1,1834	0,9217	0,8450	0,7788
2	36,6	0,7320	0,86451	1,2680	1,10312	0,8745	1,1946	1,1435	1,3361
1,5	42,3	0,6345	0,80236	0,8655	0,93727	0,5969	0,9407	1,6753	1,5760
1	36,2	0,3620	0,55871	0,6380	0,80482	0,4400	1,2155	2,2727	2,7624
0,7	37,1	0,2968	0,47246	0,5032	0,70174	0,3470	1,1692	2,8818	3,3693
0,6	35,6	0,2136	0,32960	0,3864	0,58704	0,2665	1,2472	3,7523	4,6816
0,5	39,2	0,1960	0,29226	0,3040	0,48287	0,2097	1,0696	4,7687	5,1020
0,4	36,0	0,1440	0,15836	0,2560	0,40824	0,1766	1,2260	5,6625	6,9444
0,3	40,5	0,1215	0,008458	0,1785	0,25164	0,1231	1,0132	8,1235	8,2305
0,2	36,4	0,0728	-0,13787	0,1272	0,10449	0,0877	1,2049	11,4025	13,7363
0,1	40,0	0,0400	-0,39794	0,0600	-0,22185	0,0414	1,0343	24,1550	25,0000

Tab. 6 : (Erklärung s.S. 35)

Promethazin (II)

c ($10^{-4}M$)	α	c_f	$\lg c_f$ ($10^{-5}M$)	c_g	$\lg c_g$ ($10^{-5}M$)	$\bar{x}$	$\frac{\bar{x}}{c_f}$	$\frac{1}{\bar{x}}$	$\frac{1}{c_f}$
5	37,1	1,8755	1,27312	3,1450	1,49762	2,1690	1,1565	0,4610	0,5332
4	36,4	1,4560	1,16316	2,5440	1,40552	1,7545	1,2050	0,6410	0,6868
3	36,4	1,0920	1,03822	1,9080	1,28058	1,3157	1,2050	0,7601	0,9158
2	37,2	0,7440	0,87157	1,2560	1,09899	0,8662	1,1642	1,1545	1,3441
1,5	42,9	0,6435	0,80855	0,8565	0,93379	0,5907	0,9179	1,6929	1,5540
1	39,0	0,3900	0,59106	0,6100	0,78533	0,4207	1,0787	2,3770	2,5641
0,8	37,8	0,3024	0,48058	0,4976	0,69688	0,3432	1,1348	2,9138	3,3069
0,6	37,1	0,2226	0,34753	0,3774	0,57680	0,2603	1,1692	4,9261	4,4924
0,5	39,7	0,1985	0,27531	0,3015	0,47929	0,2079	1,0475	4,8100	5,0378
0,4	37,4	0,1496	0,17493	0,2504	0,39863	0,1727	1,1543	5,7904	6,6845
0,3	38,6	0,1158	0,06371	0,1842	0,26529	0,1270	1,0970	7,8740	8,6356
0,2	32,2	0,0644	-0,19111	0,1356	0,13226	0,0935	1,4520	10,6952	15,5280
0,1	34,5	0,0345	-0,46218	0,0655	-0,18376	0,0452	1,3093	22,1239	28,9855

Tab. 7/ (Erklärung s.S. 35)

Trimeprazin (I)

c ($10^{-4}M$)	α	c_f	$\lg c_f$	$\lg c_f$ ($10^{-5}M$)	c_g	$\lg c_g$ ($10^{-5}M$)	$\bar{c}$	$\frac{\bar{c}}{c_f}$	$\frac{1}{\bar{r}}$	$\frac{1}{c_f}$
5	42,1	2,1050	1,32325	2,8950	1,46165	1,9966	0,9485	0,5009	0,4751	0,4751
4	43,9	1,7560	1,24452	2,2440	1,35102	1,5476	0,8813	1,8262	0,5695	0,5695
3	44,0	1,3200	1,12057	1,6800	1,22531	1,1546	0,8747	0,8661	0,7576	0,7576
2	45,2	0,9040	0,95617	1,0960	1,03981	0,7559	0,8361	1,3229	1,1062	1,1062
1,5	40,6	0,6090	0,78462	0,8910	0,94988	0,6145	1,0090	1,6273	1,6420	1,6420
1	43,3	0,4330	0,63649	0,5670	0,75358	0,3910	0,9031	2,5575	2,3095	2,3095
0,8	41,3	0,3304	0,51904	0,4696	0,67173	0,3239	0,9802	3,0874	3,0266	3,0266
0,6	41,1	0,2466	0,39199	0,3534	0,54827	0,2437	0,9883	4,1034	1,0118	1,0118
0,5	37,8	0,1890	0,27646	0,3110	0,49276	0,2145	1,1348	4,6620	5,2910	5,2910
0,4	41,7	0,1668	0,22220	0,2332	0,36773	0,1608	0,9641	6,2189	5,9950	5,9950
0,3	42,3	0,1269	0,10346	0,1731	0,23830	0,1194	0,9407	8,3767	7,8802	7,8802
0,2	38,2	0,0764	-0,11691	0,1236	0,09202	0,0852	1,1157	11,7315	13,0890	13,0890
0,1	38,8	0,0388	-0,41117	0,0612	-0,21325	0,0421	1,0851	23,7529	25,7732	25,7732

$c \cdot 10^{-4} \text{M}$	α	c_f	$\lg c_f (10^{-5} \text{M})$	c_g	$\lg c_g (10^{-5} \text{M})$	$\bar{x}$	$\frac{\bar{x}}{c_f}$	$\frac{1}{\bar{x}}$	$\frac{1}{c_f}$
5	44,5	2,2250	1,34733	2,7750	1,44326	1,9138	0,8601	0,5225	0,4494
4	43,2	1,7280	1,23754	2,2720	1,35641	1,5669	0,9068	0,6382	0,5787
3	40,5	1,2150	1,08458	1,7850	1,25164	1,2310	1,0132	0,8123	0,8230
2	43,9	0,8780	0,94349	1,1220	1,04999	0,7738	0,8813	1,2023	1,1390
1,5	43,4	0,6510	0,81358	0,8490	0,92891	0,5855	0,8994	1,7079	1,5361
1	41,4	0,4140	0,61700	0,5860	0,76790	0,4041	0,9762	2,4746	2,4155
0,8	39,7	0,3176	0,50188	0,4824	0,68341	0,3327	1,0475	3,0057	3,1486
0,6	42,1	0,2526	0,40243	0,3474	0,54083	0,2396	0,9485	4,1736	3,9588
0,5	38,8	0,1940	0,28780	0,3060	0,48572	0,2110	1,0878	4,7393	5,1546
0,4	41,3	0,1652	0,21801	0,2348	0,37070	0,1619	0,9802	6,1767	6,0533
0,3	40,0	0,1200	0,07918	0,1800	0,25527	0,1242	1,0344	8,0580	8,3333
0,2	35,7	0,0714	-0,14630	0,1286	0,10924	0,0887	1,2420	11,2740	14,0056
0,1	33,9	0,0339	-0,46980	0,0661	-0,17380	0,0456	1,3445	21,9298	29,4985

Tat. 9: (Erklärung s.S. 35)

Desmethylpromazin (I)

$c \cdot 10^{-4} M$	α	c_f	$\lg c_f (10^{-5} M)$	c_g	$\lg c_g (10^{-5} M)$	$\bar{x}$	$\bar{z}$	$\frac{1}{\bar{x}}$	$\frac{1}{c_f}$
5	52,2	2,6100	1,41664	1,3900	1,37840	1,6483	0,6315	0,6067	0,3831
4	50,7	2,0280	1,30707	1,9720	1,29491	1,3600	0,6706	0,7353	0,4931
3	50,0	1,5000	1,17609	1,5000	1,17609	1,0345	0,6897	0,9667	0,6667
2	50,3	1,0060	1,00260	0,9940	0,99739	0,6855	0,6814	1,4676	0,9940
1,5	51,4	0,7710	0,88705	0,7290	0,86273	0,5027	0,6521	1,9893	1,2970
1	49,5	0,4950	0,69461	0,5050	0,70329	0,3483	0,7036	2,8711	2,0202
0,8	51,2	0,4096	0,61236	0,3904	0,59151	0,2692	0,6573	3,7147	2,4414
0,6	52,4	0,3132	0,49582	0,2868	0,45758	0,1978	0,6315	5,0556	3,1928
0,5	48,9	0,2445	0,38828	0,2555	0,40739	0,1762	0,7207	5,6754	4,0900
0,4	52,3	0,2092	0,32056	0,1908	0,28058	0,1316	0,6290	7,5988	4,7801
0,3	51,3	0,1539	0,18724	0,1461	0,16465	0,1008	0,6546	9,9206	6,4977
0,2	44,6	0,0892	-0,04964	0,1108	0,04454	0,0764	0,8566	13,0873	11,2108
0,1	48,0	0,0480	-0,31876	0,0520	-0,28400	0,0359	0,7471	27,8552	20,8333

c ($10^{-4}M$)	α	c_f	$\lg c_f$ ($10^{-5}M$)	c_g	$\lg c_g$ ($10^{-5}M$)	$\bar{r}$	$\frac{\bar{r}}{c_f}$	$\frac{1}{\bar{r}}$	$\frac{1}{c_f}$
5	51,7	2,5850	1,41246	2,4150	1,38292	1,6655	0,6443	0,6004	0,3868
4	51,2	2,8480	1,31133	1,9520	1,29048	1,3462	0,6573	0,7429	0,4883
3	48,6	1,4580	1,16376	1,5420	1,18808	1,0634	0,7294	0,9404	0,6859
2	47,5	0,9500	0,97772	1,0500	1,02119	0,7241	0,7622	1,3810	1,0526
1,5	48,9	0,7335	0,86540	0,7665	0,88451	0,5286	0,7207	1,8918	1,3633
1	48,9	0,4890	0,68931	0,5110	0,70842	0,3524	0,7207	2,8377	2,0450
0,8	51,7	0,4136	0,61658	0,3864	0,58704	0,2665	0,6443	3,7523	2,4178
0,6	50,8	0,3048	0,48401	0,2952	0,47012	0,2036	0,6679	4,9116	3,2808
0,5	50,7	0,2535	0,40298	0,2465	0,39182	0,1700	0,6706	5,8874	3,9448
0,4	52,3	0,2092	0,32056	0,1908	0,28058	0,1316	0,6290	7,5988	4,7801
0,3	49,4	0,1482	0,17085	0,1518	0,18127	0,1047	0,7063	9,5511	5,4945
0,2	49,4	0,0988	-0,00524	0,1012	0,00518	0,0698	0,7064	14,3266	10,1215
0,1	52,4	0,0524	-0,28067	0,0476	-0,32239	0,0328	0,6263	30,4878	19,0840

Tab. 11: (Erklärung s.S. 35)

Desmethylechlorpromazin (I)

c ($10^{-4}M$)	α	c_f	$\lg c_f$ ($10^{-5}M$)	c_g	$\lg c_g$ ($10^{-5}M$)	$\bar{r}$	$\frac{\bar{r}}{c_f}$	$\frac{1}{\bar{r}}$	$\frac{1}{c_f}$
3	37,3	1,8650	1,27063	3,1350	1,49624	2,1621	1,1593	0,4625	0,5362
4	35,6	1,4240	1,15351	2,5760	1,41095	1,7766	1,2476	0,5629	0,7022
3	35,4	1,0620	1,02612	1,9380	1,28735	1,3366	1,2585	0,7482	1,4241
2	35,2	0,7040	0,84757	1,2960	1,11261	0,8938	1,2696	1,1188	1,4205
1,5	36,9	0,5535	0,74312	0,9465	0,97612	0,6528	1,1793	1,5319	1,8067
1	35,8	0,4580	0,55388	0,6420	0,80754	0,4428	1,2367	2,2584	2,7933
0,8	35,3	0,2824	0,45086	0,5176	0,71399	0,3570	1,2640	2,8011	3,5411
0,6	33,6	0,2016	0,30449	0,3984	0,60032	0,2748	1,3628	3,6390	4,9603
0,5	35,1	0,1755	0,24428	0,3245	0,51121	0,2238	1,2752	4,4683	5,6980
0,4	33,7	0,1348	0,12696	0,2652	0,42357	0,1829	1,3568	5,4675	7,4184
0,3	32,8	0,0984	-0,00700	0,2016	0,30449	0,1390	1,4790	7,1942	10,1626
0,2	30,3	0,0606	-0,21753	0,1394	0,14426	0,0961	1,5863	10,4058	16,5017
0,1	31,4	0,0314	-0,30307	0,0686	-0,16328	0,0473	1,5067	21,1416	31,8471

Tab. 12: (Erklärung s.S. 35)

Desmethylichlorpromazin (II)

$c \cdot 10^{-4} \text{M}$	α	c_f	$\lg c_f (10^{-5} \text{M})$	c_g	$\lg c_g (10^{-5} \text{M})$	$\bar{r}$	$\frac{\bar{r}}{c_f}$	$\frac{1}{\bar{r}}$	$\frac{1}{c_f}$
5	34,7	1,7350	1,23930	3,2650	1,51388	2,2517	1,2978	0,4441	0,5764
4	33,8	1,3520	1,3098	2,6480	1,42292	1,8262	1,3507	0,5476	0,7396
3	33,8	1,0140	1,00604	1,9860	1,29798	1,3697	1,3507	0,7308	0,9862
2	35,9	0,7180	0,85612	1,2820	1,10789	0,8841	1,2314	1,1311	1,3928
1,5	37,0	0,5550	0,74429	0,9450	0,97543	0,6517	1,1743	1,5344	1,8018
1	34,5	0,3450	0,53728	0,6550	0,81624	0,4517	1,3093	2,2139	2,8986
0,8	35,7	0,2856	0,45576	0,5144	0,71130	0,3548	1,2412	2,8185	3,5014
0,6	35,1	0,2106	0,32346	0,3894	0,59040	0,2686	1,2752	3,7237	4,7483
0,5	34,7	0,1735	0,23930	0,3265	0,51388	0,2252	1,2978	4,4405	5,7637
0,4	32,8	0,1312	0,11793	0,2688	0,42943	0,1854	1,4129	5,3937	7,6220
0,3	36,6	0,1098	0,04060	0,1902	0,27921	0,1312	1,1946	7,6220	9,1075
0,2	32,6	0,0652	-0,18575	0,1348	0,12969	0,0930	1,4258	10,7527	15,3374
0,1	34,1	0,0341	-0,46725	0,0659	-0,18111	0,0454	1,3326	22,0264	29,3255

Tab. 13: (Erklärung s.S. 35)

Perazin (I)

$c \cdot 10^{-4M}$	α	c_f	$\lg c_f (10^{-5M})$	c_g	$\lg c_g (10^{-5M})$	$\bar{r}$	$\bar{r}_{c_f}$	$\frac{1}{\bar{r}}$	$\frac{1}{c_f}$
5	27,3	1,3650	1,13513	3,6350	1,56050	2,5069	1,8365	0,3989	0,7326
4	25,4	1,0160	1,00689	2,9840	1,47480	2,0579	2,0255	0,4859	0,9843
3	22,3	0,6690	0,82543	2,3310	1,36754	1,6076	2,4030	0,6220	1,4948
2	25,3	0,5060	0,70415	1,4940	1,17435	1,0303	2,0362	0,9706	1,9763
1,5	23,9	0,3585	0,55449	1,1415	1,05748	0,7872	2,1959	1,2703	2,7894
1	22,9	0,2290	0,35984	0,7710	0,88705	0,5317	2,3219	1,8808	4,3668
0,8	26,3	0,2104	0,32305	0,5896	0,77056	0,4066	1,9326	2,4594	4,7529
0,6	28,4	0,1704	0,23147	0,4296	0,63306	0,2963	1,7387	3,3750	5,8685
0,5	22,0	0,1100	0,04139	0,3900	0,59100	0,2690	2,4451	3,7175	9,0909
0,4	28,3	0,1132	0,05385	0,2868	0,45758	0,1978	1,7473	5,0556	8,8339
0,3	22,4	0,0672	-0,17263	0,2328	0,36698	0,1606	2,3891	6,0241	14,8801
0,2	21,0	0,0420	-0,37675	0,1580	0,19866	0,1090	2,5943	9,1743	23,8095
0,1	23,3	0,0233	-0,63264	0,0767	-0,11520	0,0529	2,2700	18,9036	42,9184

$c \cdot 10^{-4M}$	α	c_f	$\lg c_f (10^{-5M})$	c_g	$\lg c_g (10^{-5M})$	$\bar{x}$	$\frac{\bar{x}}{x}$	$\frac{1}{x}$	$\frac{1}{c_f}$
5	27,5	1,3750	1,13830	3,6250	1,55931	2,5000	1,8181	0,4000	0,7273
4	25,6	1,0240	1,01030	2,9760	1,47363	1,0524	2,0043	0,4872	0,9756
3	21,3	0,6540	0,81558	2,3460	1,37033	1,6179	2,4739	0,6181	1,5291
2	25,7	0,5140	0,71096	1,4860	1,17202	1,0248	1,9938	0,9758	1,9455
1,5	24,3	0,3645	0,56170	1,1355	1,05519	0,7831	2,1484	1,2770	2,7435
1	26,4	0,2640	0,42160	0,7360	0,86688	0,5076	1,9227	1,9701	3,7879
0,8	22,5	0,1800	0,25527	0,6200	0,79239	0,4276	2,3654	2,3386	5,5556
0,6	24,1	0,1446	0,16017	0,4554	0,65839	0,3141	2,1719	3,1841	6,9156
0,5	24,3	0,1215	0,08458	0,3785	0,57807	0,2610	2,1484	3,8314	8,2305
0,4	22,8	0,0912	-0,04001	0,3088	0,48969	0,2130	2,3351	4,6948	10,9649
0,3	25,1	0,0753	-0,12321	0,2247	0,35160	0,1550	2,0579	6,4516	13,2802
0,2	26,6	0,0532	-0,27409	0,1468	0,16673	0,1012	1,9030	9,8814	18,7970
0,1	25,0	0,0250	-0,60206	0,0750	-0,12494	0,0517	2,0688	19,3424	40,0000

Tab. 15: Vergleich von experimentell gefundenem Verteilungskoeffizienten bzw. dessen Logarithmus (P bzw. logP) zwischen n-Octanol und Wasser und dem prozentualen Anteil an freiem, nicht eiweißgebundenen Arzneimittel (α_{exp}) mit den entsprechenden berechneten Werten ($\Sigma \pi$ und α_b) der Phenothiazinderivate: Promazin^{x, +} (PZ), Promethazin (PM), Trimeprazin (TM), Desmethylpromazin (DPZ), Perazin (PE), Chlorpromazin^{, +} (CPZ) und Desmethylchlorpromazin.

	P ($\bar{x} + s_{\bar{x}}$)	logP	$\Sigma \pi$	α_{exp}	α_b
PZ	357 $\pm$ 16	2,55	-	51	-
PM	757 $\pm$ 23	2,88	2,37	38	53
TM	813 $\pm$ 31	2,91	2,87	42	38
DPZ	38,2 $\pm$ 0,9	1,58	1,84	50	69
PE	803 $\pm$ 36	2,90	3,15	25	31
CPZ	1814 $\pm$ 107	3,25	3,31	30	27
DCPZ	200 $\pm$ 6	2,30	2,55	36	48

x: Die Eiweißbindung von Promazin wurde bereits von Krieglstein und Kuschinsky (1969) untersucht. Der angegebene α - Wert ist dieser Arbeit entnommen.

": Die Rinderserumalbuminbindung von Chlorpromazin wurde von Glaßer und Krieglstein (1970) bestimmt.

+: Die Daten über das Verteilungsverhalten zwischen n-Octanol und Wasser für Promazin und Chlorpromazin sind ebenfalls aus der Arbeit von Glaßer und Krieglstein (1970) zitiert.

Tab. 16: Matrix der α - Wert - Unterschiede der untersuchten Phenothiazinderivate (Absolutbetrag). Wenn eine Mittelwertsdifferenz den Wert 1,81 (T) überschreitet, ist der Wert statistisch signifikant (Irrtumswahrscheinlichkeit 0,01).

PE = Perazin, PM = Promethazin, TM = Trimeprazin,
 DPZ = Desmethylpromazin, DCPZ = Desmethylchlorpromazin,
 PZ = Promazin

	PE	PM	TM	DPZ	DCPZ	PZ
PE	-					
PM	13,35	-				
TM	16,47	3,12	-			
DPZ	25,61	12,26	9,14	-		
DCPZ	10,09	3,26	6,38	15,52	-	
PZ	24,55	11,20	8,08	1,06	14,46	-

ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit sollte Aufschluß über den Phenothiazin - Eiweiß - Komplex geben.

Mit Hilfe der Sephadexgelfiltration wurde bei pH 7,4, 22°C in einer 1 %igen Rinderserumalbuminlösung die Proteinbindung von Promazin, Promethazin, Trimeprazin, Desmethylpromazin, Desmethylchlorpromazin und Perazin bestimmt. Die Konzentrationen dieser Phenothiazinderivate wurden dabei zwischen $c = 5 \cdot 10^{-4}M$ und $c = 10^{-5}M$ variiert. Die Charakterisierung der Eiweißbindung erfolgte durch die Bestimmung der folgenden Parameter:

α = prozentualer Anteil an freiem, nicht an Albumin gebundenem Arzneimittel,

β = prozentualer Anteil von an Albumin gebundenem Pharmakon,

K_1 = Gesamtbindungskonstante, k^+ = apparente Bindungskonstante,

m = Steigungskonstante, F^0 = freie Reaktionsenergie.

Der hydrophobe Charakter der Phenothiazinderivate wurde als Verteilungskoeffizient P zwischen n -Octanol und Pufferlösung beschrieben.

Für Promethazin, das mit Promazin stellungsisomer, für Trimeprazin, das in der Seitenkette im Vergleich mit Promazin um eine Methylgruppe größer ist und Perazin, das einen methylierten Piperazinring enthält, fanden

sich ein Anstieg der Albuminbindung gegenüber Promazin bei einem gleichzeitigen Anwachsen des hydrophoben Charakters. Bei Desmethylpromazin und Desmethylchlorpromazin zeigte sich im Vergleich zu den nicht demethylierten Ausgangssubstanzen eine relativ geringe Änderung der Eiweißbindung, während die P - Werte auf ein Zehntel abfielen.

Folgendes Modell ist für den Phenothiazin - Eiweißkomplex anzunehmen:

Die Phenothiazinderivate haften durch hydrophobe Wechselwirkungen mit nur einem Benzolring an der Albuminoberfläche. Der basische Teil der Seitenkette ist ionogen an das Protein gebunden. Eine Methylgruppe in dem aliphatischen Abschnitt dieser Kette führt zu zusätzlichen hydrophoben Wechselwirkungen zwischen Phenothiazinderivat und Protein.

Literatur

- ANTON, H.H.: A drug induced change in the distribution and renal excretion of sulfonamides. J. Pharmac. exp. Ther. 134, 191 - 303 (1961).
- BICKEL, M.H., H.J. WEDER: Buccal absorption and other properties of pharmacokinetic importance of imipramine and its metabolites. J. Pharm. Pharmacol. 21, 160 - 168 (1969).
- BIRD, A.E., MARSHALL, A.C.: Correlation of serum binding of penicillins with partition coefficients. Biochem. Pharmacol. 16, 2275-2290 (1967).
- BRODIE, B.B. in: (T.B. Binns, Ed.) Absorption and distribution of drugs. Edingburgh: Livingstone 1964.
- Displacement of one drug by another from carrier or receptor sites. Proc. roy. Soc. Med. 58, 946 - 955 (1965).
- , C.A. M. HOGBEN: Some physico-chemical factors in drug. action. J. Pharm. Pharmacol. 9, 335 - 380 (1957).
- BÜTTNER, H., F. PORTWICH: Kompetitionsphänomene bei der Bindung von Pharmaka an Albumin. Klin. Wschr. 45, 225 - 230 (1967).
- CHRISTENSEN, L.K., J.M. HANSEN, M. KRISTENSEN: Sulpha-phenazole-induced hypoglycaemic attacks in tolbutamide-treated diabetics. Lancet 1963 II, 1298 - 1301 (1963).
- FENNER, H.: Structure - Activity - Relationship in the Field of Phenothiazine Drugs, in: Pharmakopsychiatrie, Neuropsychopharmakologie 3, 332 - 339 (1970).
- FRANZ, J.W., E. JÄHNCHEN, J. KRIEGLSTEIN:
Der Einfluß verschiedener Pharmaka auf das Bindungsvermögen einer Albuminlösung für Promazin und Chlorpromazin. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 264, 462 - 475 (1969).

- FREDERICQ, E.: Interactions de protéines et d'ions en solution. I Influences de structure dans les associations entre protéins et anions organiques. Bull. Soc. chim. Belg. 63, 158 - 181 (1954).
- , Interactions de protéines et d'ions en solution. II. Energie d'association de la serumalbumine et d'anions organiques. Bull. Soc. chim. Belg. 64, 639 - 657 (1955).
- FUJITA, T., J. JWASA, C. HANSCH: A new substituent constant $\overline{\pi}$, derived from partition coefficients. J. Am. chem. Soc. 86, 5171 - 5180 (1964).
- GLASSER, H., J. KRIEGLSTEIN: Die Eiweißbindung einiger Psychopharmaka mit trizyklischem Ringsystem in Abhängigkeit von ihrer chemischen Konstitution. Naunyn - Schmiedebergs Arch. Pharmak. 265, 321 - 334 (1970).
- GOLDSTEIN, A.: The interactions of drugs and plasma proteins. Pharmacol. Rev. 1, 120 - 165 (1949).
- GREEN, A.L.: Ionization constants and water solubilities of some phenothiazine tranquilizers and related compounds. J. Pharm. Pharmacol. 19, 10 - 16 (1967).
- GUILFORD, J.P.: Fundamental statistics in psychology and education. 4. Aufl.: McGraw Hill, New York usw. 1965, S. 275 ff.
- HANSCH, C.: The use of homolytic, steric, and hydrophobic constants in a structure - activity study of 1,3 - benzodioxole synergists. J. med. Chem. 11, 920 - 924 (1968).

- HANSCH, C., KIEHS, K., G.L. LAWRENCE: The role of substituents in the hydrophobic bonding of phenole by serum and mitochondrial proteins. J. Amer. chem. Soc. 87, 5770 - 5773 (1965).
- , MALONEY, P.P., T. FUJITA: Correlation of biological activity of phenoxyacetic acidas with Hammett substituent constants and partition coefficients. Nature (Lond.) 194, 178 - 180 (1962).
- , STEWARD, A.R.: The use of substituent constants in the analysis of the structure - activity relationship in penicillin derivatives. J. med. Chem. 7, 691 - 694 (1964).
- HOFMANN, P., J. KRIEGLSTEIN, E. MUTSCHLER, U. WOLLERT: Die Bestimmung der Eiweißbindung einiger Guanylhydrazone mit Hilfe der Sephadexgelfiltration. Arzneimittelforsch. 20, 681 - 684 (1970).
- JÄHNCHEN, E., J. KRIEGLSTEIN, G. KUSCHINSKY: Die Bedeutung der Benzolringe bei der Eiweißbindung von Promazin und Chlorpromazin. Naunyn - Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 263, 375 - 386 (1969).
- JARDETZKY, O.: Magnetische Resonanz in der pharmakologischen Forschung. Naturwiss. 54, 149 - 155 (1967).
- KEEN, P.M.: The displacement of three anionic drugs from binding of sulfonamides to bovine serum albumin by various anionic compounds. Brit. J. Pharmacol. 26, 704 - 712 (1966).

- KLOTZ, J.M.: The application of the law of mass action to binding by proteins. Interactions with calcium. Arch. Biochem. Biophys. 9, 109 - 117 (1946).
- KRIEGLSTEIN, J., G. KUSCHINSKY: Quantitative Bestimmung der Eiweißbindung von Pharmaka durch Gelfiltration. Arzneimittel - Forsch. 18, 287 - 289 (1968).
- , Über die Wechselwirkung von Phenothiazinderivaten mit Rinderserumalbumin. Naunyn - Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 262, 1 - 16 (1969).
- MEILER, W.: Über die Verdrängung von Phenothiazinderivaten aus ihrer Albuminbindung. Med. Diss., Mainz (1972).
- NEMETHY, G.: Hydrophobe Wechselwirkungen. Angew. Chem. 79, 260 - 271 (1967).
- SCHOLTAN, W.: Über die Bindung der Langzeitsulfonamide an die Eiweißkörper. Makromol. Chem. 54, 24 - 59 (1962).
- Bestimmungsmethoden und Gesetzmäßigkeiten der Eiweißbindung von Sulfonamiden und Penicillinen. Antibiotica et Chemotherapia 12, 103 - 134 (1962).
 - Die Bindung der Sulfonamide an Eiweißkörper. 3. Mitteilung: Abhängigkeit der Eiweißbindung vom pH - Wert der Lösung, von der Konstitution der Sulfonamide und von der Art des Eiweißkörpers. (1. Teil). Arzneimittel-Forsch., 14, 348 - 356 (1964).
 - Die hydrophobe Bindung der Pharmaka an Humanalbumin und Ribonucleinsäure. Arzneimittel - Forsch. 18, 505 - 517 (1968).

SCHOLTAN, W., SCHLOSSMANN, H., H. ROSENKRANZ:

Die Bindung von Steroidhormonen und von Steroid-
guanylhydrazonen an Serumalbumin. Arzneimittel -
Forsch. 18, 767 - 780 (1968).

SNEDECOR, G.W.: Statistical Methods, University Press,
Iowa (1956).

Lebenslauf

Am 29. September 1944 wurde ich als Sohn des Bankkaufmanns Franz Friedrich Staab und seiner Ehefrau Elisabeth, geborene Groß, in Budenheim bei Mainz geboren.

Ich besuchte die dortige Volksschule von 1951 an und wechselte dann auf das Gymnasium am Kurfürstlichen Schloß in Mainz über, wo ich im März 1965 die Reifeprüfung bestand.

Im Sommersemester 1965 immatrikulierte ich mich an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz für das Fach Medizin. Ich absolvierte mein gesamtes Studium in Mainz. So legte ich im Frühjahr 1966 hier die Naturwissenschaftliche Vorprüfung (Vorphysikum), im Frühjahr 1968 die Ärztliche Vorprüfung (Physikum) ab und bestand, ebenfalls in Mainz, am 8. Juli 1971 das Medizinische Staatsexamen.

Den experimentellen Teil meiner Doktorarbeit beendete ich noch während des Studiums. Neben Examensvorbereitungen waren es in zunehmendem Maße die nach dem Tode meiner Mutter zu leistenden, notwendigen Arbeiten im elterlichen Haushalt, die mich mit der Fertigstellung der Dissertation in Verzug brachten.

Nach dem Staatsexamen war ich vier Monate als Medizinalassistent auf einer Männerstation der chir. Abteilung des St. Josefs Krankenhauses in Wiesbaden, danach vorübergehend im Pharmakologischen Institut der Universität Mainz und schließlich als Medizinalassistent bzw. als Assistenzarzt ein Jahr in der inneren Abteilung des Krankenhauses des Rheingaukreises in Eltville tätig. Die Approbation als Arzt erhielt ich zum 31. Juli 1972. Mit der Einberufung zum Grundwehrdienst für fünfzehn Monate in der Bundeswehr Anfang Februar 1973 endete meine Arbeit in Eltville.

